Iranian Journal of Field Crops Research
Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

Research Article
Vol. 21, No. 3, Fall 2023, p. 333-346

Effect of Application of Plant Growth Promoting Bacteria and Amino Acids Foliar Application on Growth Characteristics, Yield, and Nutritional Value of Rice (*Oryza sativa* L.)

R. Ashouri[1], H. Fallah[1*], Y. Niknezhad[1,2], D. Barari Tari[1]

Received: 25 February 2023 Revised: 21 April 2023 Accepted: 01 May 2023	**How to cite this article:** Ashouri, R., Fallah, H., Niknezhad, Y., & Barari Tari, D. (2023). Effect of Application of Plant Growth Promoting Bacteria and Amino Acids Foliar Application on Growth Characteristics, Yield, and Nutritional Value in Rice (*Oryza sativa* L.). *Iranian Journal of Field Crops Research, 21*(3), 333-346. (in Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jcesc.2023.81340.1230

Introduction

Rice (*Oryza sativa* L.), as one of the most important cereals, is the main food of more than 50% of the world's population. Excessive use of chemical fertilizers in paddy fields has caused many environmental problems. Therefore, the application of biological fertilizers instead of chemical fertilizers to increase the yield of crops and produce more food is one of the important goals of sustainable agriculture, which is necessary for human life. Bacteria is an example of biological fertilizer used in agriculture, which plays an important role in improving soil structure, improving plant growth, and increasing the quantitative and qualitative yield of crops. Another biological stimulant of plants is amino acids, which can increase plant growth, improve nutrients uptake, and increase grain yield and grain quality of crops. Methionine is the precursor of growth regulators such as auxin, cytokinin, and brassinosteroids and is known as the most important growth-limiting amino acid in plants. Lysine is an essential amino acid that is involved in the germination of pollen grains, chlorophyll synthesis, and crop production. Therefore, the present study aimed to evaluate the effects of different strains of plant growth-promoting bacteria and amino acids on growth, yield, and concentration of nutrients in rice.

Materials and Methods

The field experiment was arranged as a split-plot in a randomized complete block design with three replications at the farmer's field located in Mazandaran province, Amol during 2019-2020 cropping seasons. In the present research, the plant growth-promoting bacteria at five levels (control or without bacteria [B_0], *P. agglomerans* strain O4 [B_1], *P. putida* strain P13 + *P. agglomerans* strain P5 [B_2], *P. koreensis* strain S14 + *P. vancouverensis* strain S19 [B_3] and combination of different strains [B_4]) as the main factor and amino acids foliar application in four levels (control or without amino acids [A_0], methionine [A_1], lysine [A_2] and methionine + lysine [A_3]) as the sub-factor were considered. The plant growth-promoting bacteria at the rate of 100 $g.ha^{-1}$ and amino acids at a concentration of 2.5 per thousand were applied in this study. At physiological maturity, the growth, yield components, grain yield, and nutrients uptake (NPK) in grain were measured. A combined analysis of variance was performed using SAS software version 9.2. Mean values were compared using least significant difference (LSD) test at 5% probability level.

Results and Discussion

The outcomes established that the bacteria treatment exerted a notable impact on all examined traits, excluding the count of fertile tillers per hill. Equally noteworthy, the amino acid intervention displayed significance in terms of 1000-grain weight, grain yield, and nitrogen concentration in rice grains. However, the interaction between bacteria and amino acids exhibited no significance across the quantitative and qualitative

1- Department of Agronomy, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
2- Medicinal Plants Research Centre, Ayatollah Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran
(*- Corresponding Author Email: hormozfalah@gmail.com)
https://doi.org/10.22067/jcesc.2023.81340.1230

characteristics of rice. The concurrent utilization of bacteria strains, specifically B4, yielded substantial enhancements in panicle length (24.22 cm), the count of filled grains per panicle (60.30 filled grains), 1000-grain weight (28.52 g), grain yield (5097.50 $kg.ha^{-1}$), and the amelioration of nutrients concentrations. Notably, nutrients like nitrogen (1.61%), phosphorus (7.04%), and potassium (1.53%) exhibited improvements in rice grains, in comparison to instances involving separate strain applications and the control group. Simultaneous foliar application of methionine and lysine amino acids resulted in maximum 1000-grain weight (26.90 g), highest grain yield (4844.73 $kg.ha^{-1}$), and production of the greatest nitrogen content in grain (1.40%). In the present research, the increase in grain yield by combined application of different bacteria strains might be due to enhancing growth, improving yield components such as 1000-grain weight and filled grains number per panicle, and increasing nutrients concentration (NPK) in rice. Also, the simultaneous foliar application of methionine and lysine led to an increase in rice grain yield through increasing 1000-grain weight and improving nitrogen uptake in rice grains.

Conclusion

According to the results of this experiment, the combined application of the bacteria strains (*P. agglomerans* strain O4 + *P. putida* strain P13 + *P. agglomerans* strain P5 + *P. koreensis* strain S14 + *P. vancouverensis* strain S19) and simultaneous foliar application of methionine and lysine can play an important role in improving growth, yield and nutrients uptake in rice grains.

Keywords: Grain yield, Lysine, Methionine, NPK concentration, Plant growth promoting bacteria

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
Homepage: https://jcesc.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۲۱، شماره ۳، پاییز ۱٤۰۲، ص ۳٤٦-۳۳۳

اثر کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه و محلول‌پاشی اسیدهای آمینه بر ویژگی‌های رشد، عملکرد و ارزش غذایی در برنج (*Oryza sativa* L.)

رسول آشوری[1]، هرمز فلاح[1*]، یوسف نیک‌نژاد[1،2]، داوود براری تاری[1]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۲/۱۱

چکیده

باکتری‌های محرک رشد گیاه و اسیدهای آمینه می‌توانند به‌عنوان یک رویکرد عملی و سازگار با محیط‌زیست جهت بهبود رشد و عملکرد گیاهان زراعی مورد استفاده قرار گیرند. به‌منظور بررسی اثرات کاربرد سویه‌های باکتری‌های محرک رشد گیاه و محلول‌پاشی اسیدهای آمینه بر رشد، عملکرد و محتوای عناصر غذایی دانه در برنج رقم هاشمی، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه‌ای شالیزاری واقع در شهرستان آمل طی دو سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ اجرا شد. باکتری‌های محرک رشد گیاه در پنج سطح (شاهد بدون باکتری [B_0]، *Pantoea agglomerans* strain O4 [B_1]، *Pseudomonas putida* strain P13 + *Pantoea agglomerans* strain P5 [B_2]، *Pseudomonas vancouverensis* strain S19 + *Pseudomonas koreensis* strain S14 [B_3] و ترکیب سویه‌های مختلف [B_4]) به‌عنوان عامل اصلی و محلول‌پاشی اسیدهای آمینه در چهار سطح (شاهد بدون محلول‌پاشی اسیدهای آمینه [A_0]، محلول‌پاشی متیونین [A_1]، لیزین [A_2] و متیونین + لیزین [A_3]) به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. نتایج نشان داد که کاربرد تلفیقی سویه‌های باکتری مورد مطالعه (B_4) منجر به افزایش معنی‌دار طول خوشه (۲۴/۲۲ سانتی‌متر)، تعداد دانه پر در خوشه (۶۰/۳۰ دانه پر)، وزن هزار دانه (۲۸/۵۲ گرم)، عملکرد دانه (۵۰۹۷/۵۰ کیلوگرم در هکتار) و بهبود محتوای عناصر نیتروژن (۱/۶۱ درصد)، فسفر (۷/۰۴ درصد) و پتاسیم (۱/۵۳ درصد) در دانه برنج در مقایسه با تیمارهای کاربرد جداگانه سویه‌های باکتری و هم‌چنین تیمار شاهد (بدون باکتری) شد. محلول پاشی ترکیبی اسیدهای آمینه متیونین و لیزین منجر به تولید بیشترین مقدار وزن هزار دانه (۲۶/۹۰ گرم)، عملکرد دانه (۴۸۴۴/۷۳ کیلوگرم در هکتار) و محتوای نیتروژن در دانه (۱/۴۰ درصد) گردید. با توجه به نتایج مطالعه حاضر، کاربرد ترکیبی سویه‌های باکتری (*P. agglomerans* strain O4+ *P. putida* strain P13 + *P. agglomerans* strain P5+ *P. koreensis* strain S14 + *P. vancouverensis* strain S19) و محلول‌پاشی توأم اسیدهای آمینه متیونین و لیزین می‌توانند نقش مهمی در بهبود رشد، عملکرد و جذب عناصر غذایی در دانه برنج رقم هاشمی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: باکتری افزاینده رشد گیاه، عملکرد دانه، غلظت NPK، لیزین، متیونین

مقدمه

استفاده پیوسته کودهای شیمیایی در اراضی شالیزاری سبب ایجاد مشکلات متعدد زیست‌محیطی گردیده است (Xia *et al*., 2017). لذا، مصرف کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی به‌منظور افزایش عملکرد محصولات کشاورزی و تولید بیشتر مواد غذایی از اهداف مهم کشاورزی پایدار می‌باشد که نیل به این مسأله برای حیات انسان ضرورت دارد (Kochaki, Jahan, & Nassiri Mahallti, 2008). استفاده از کودهای زیستی ضمن افزایش تولید محصول و کاهش نیاز به کودهای شیمیایی، گامی مؤثر در راستای کشاورزی پایدار و حفظ محیط‌زیست می‌باشد (Kheyri *et al*., 2017). ریزوباکتری‌های محرک رشد گیاه، باکتری‌های موجود در خاک هستند که اطراف و یا روی سطح ریشه گیاهان زندگی می‌کنند و به‌طور مستقیم و یا غیرمستقیم در تحریک رشد و نمو گیاه از طریق تولید و ترشح تنظیم‌کننده‌های شیمیایی در ریزوسفر مؤثرند. به‌طور کلی باکتری‌های محرک رشد، رشد گیاه را به‌طور مستقیم از طریق تأثیر بر جذب عناصر غذایی (نیتروژن، فسفر و مواد معدنی ضروری) و

۱- گروه زراعت، واحد آیت الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
۲- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، واحد آیت‌اله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: hormozfalah@gmail.com)
https://doi.org/10.22067/jcesc.2023.81340.1230

هم از طریق تعدیل در مقدار هورمون‌های گیاهی و یا به‌طور غیرمستقیم از طریق کنترل عوامل زیستی و کاهش اثرات مهاری پاتوژن‌های مختلف بر رشد و نمو گیاه، تسهیل می‌کنند (Ahemad & Kibret, 2013). باکتری‌های محرک رشد گیاه ضمن افزایش فراهمی نیتروژن، انحلال فسفر و پتاسیم و کنترل عوامل بیماری‌زا، به‌واسطه تولید هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاه نظیر ایندول استیک اسید، اکسین، سیتوکینین و جیبرلیک اسید سبب افزایش رشد گیاهان زراعی می‌گردند (Sharma, 2003). مطالعات قبلی نشان داده که تلقیح برنج (*Oryza sativa* L.) با باکتری‌های افزاینده رشد نظیر *Azospirillum brasilense* و *Pseudomonas fluorescens* از طریق مکانیسم‌های تثبیت نیتروژن و تولید هورمون‌های گیاهی موجب افزایش ظرفیت فتوسنتزی، بهبود جذب عناصر غذایی و افزایش عملکرد دانه برنج گردید (Garcia de Salamone *et al.*, 2012). باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن علاوه بر تثبیت نیتروژن، می‌توانند از طریق تولید مواد محرک رشد گیاهی و سنتز اسیدهای آلی موجب فراهمی عناصر غذایی، بهبود رشد ریشه و تارهای کشنده و متعاقب آن بهبود سرعت جذب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه گردند (Wu, Cao, Li, Cheung, & Wong, 2005). سایر محققان بیان نمودند که باکتری‌های حل‌کننده فسفات مانند *Pseudomonas fluorescens* و Pseudomonas putida به‌واسطه تولید آنزیم‌های فسفاتاز، هورمون‌های رشد نظیر اکسین و جیبرلیک اسید و همچنین، ویتامین‌ها موجب آزاد شدن فسفر از ترکیبات آلی فسفردار می‌گردند (Rezvan Beidokhti, Dashtban, Kafi, & Sanjani, 2009). گزارش شده که کاربرد ترکیبی سویه‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد گیاه (*P. ananatis* + *P. indica* + *Enterobacter* sp.) موجب بهبود معنی‌دار وزن خشک، جذب فسفر و پتاسیم و همچنین افزایش کارآیی مصرف عناصر غذایی در برنج شد (Bakhshandeh *et al.*, 2020). سوزا و همکاران (Souza *et al.*, 2013) نیز به نقش حیاتی باکتری‌های محرک رشد گیاه در افزایش جذب عناصر غذایی نظیر نیتروژن، فسفر و پتاسیم و در نتیجه بهبود رشد و بهره‌وری برنج اشاره داشتند. محققان افزایش جذب عناصر غذایی با کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه را به مکانیسم‌هایی نظیر تأمین نیتروژن مورد نیاز گیاه از طریق تثبیت N_2، تولید فیتوهورمون‌ها مانند اکسین، جیبرلین و سیتوکینین و همچنین کنترل بیولوژیکی در برابر عوامل بیماری‌زای خاکزی مرتبط دانستند (Kavino, Harish, Kumar, Saravanakumar, & Samiyappan, 2010). بررسی‌های به‌عمل‌آمده توسط رضوان بیدختی و همکاران (Rezvan Beidokhti *et al.*, 2009) نشان داد که با افزایش تعداد و تنوع باکتری‌های محرک رشد می‌توان به‌واسطه افزایش تعداد و تنوع اسیدهای آلی مؤثر در فرآیند انحلال فسفات‌های نامحلول، موجب کاهش مصرف کود فسفر به میزان ۵۰ درصد شد.

در عین حال استفاده از یکی دیگر از محرک‌های زیستی گیاهان نظیر اسیدهای آمینه شامل متیونین و لیزین نیز مورد توجه قرار گرفتند. این محرک‌ها قادرند منجر به افزایش رشد گیاه، بهبود جذب عناصر غذایی و افزایش عملکرد کمی و کیفی محصولات زراعی گردند (Rouphael & Colla, 2018). اسیدهای آمینه به‌عنوان منبعی از نیتروژن در سنتز هورمون‌های رشد و همچنین پیام‌رسانی به فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی در گیاهان نقش دارند (Teixeira *et al.*, 2018). متیونین مهم‌ترین اسید آمینه محدودکننده رشد در گیاهان است که پیش‌ساز تنظیم‌کننده‌های رشد مانند اکسین، سیتوکینین و براسینواستروئیدها محسوب می‌گردد (El-Awadi, El-Bassiony, Fawzy, & El-Nemr, 2011). لیزین نیز به‌عنوان یک اسید آمینه ضروری در تنظیم باز شدن روزنه‌های برگ، جوانه‌زنی دانه‌های گرده و سنتز کلروفیل (Galili & Amir, 2013) نقش دارد و موجب افزایش عملکرد کمی و کیفی دانه برنج می‌گردد (Yang *et al.*, 2017). مطالعات قبلی، بهبود جذب عناصر غذایی در دانه برنج با کاربرد اسیدهای آمینه متیونین (Nguyen, Hoefgen, & Hesse, 2012) و لیزین (Yang *et al.*, 2016) را اثبات نموده است. بررسی‌های به‌عمل‌آمده توسط کولا و همکاران (Colla, Cardarelli, Bonini, & Rouphael, 2017) نشان داد که محلول‌پاشی اسیدهای آمینه اثرات مستقیمی در تحریک رشد گیاه، افزایش جذب عناصر غذایی و بهبود عملکرد دارد. اثرات مثبت محلول‌پاشی اسیدهای آمینه بر خصوصیات فیزیکوشیمیایی، رشد و جذب عناصر غذایی در سایر محصولات زراعی مانند سویا (*Glycine max* L.) (Teixeira *et al.*, 2018)، کلم بروکلی (*Brassica oleracea* L.) (Shekari & Javanmardi, 2017) و کاهو (*Lactuca sativa* L.) (Khan *et al.*, 2019) نیز در نتایج سایر محققان گزارش شده است.

آزمایش حاضر با هدف بررسی اثرات کاربرد سویه‌های مختلف باکتری‌های محرک رشد گیاه و محلول‌پاشی اسیدهای آمینه بر ویژگی‌های مرتبط به رشد، عملکرد و اجزای آن و ارزش غذایی در برنج رقم هاشمی اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

به‌منظور انجام این پژوهش، آزمایشی به‌صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در یک مزرعه شالیزاری واقع در شهرستان آمل طی دو سال ۱۳۹۸ و ۱۳۹۹ اجرا گردید. منطقه اجرای طرح با مختصات جغرافیایی ۳۶ درجه و ۵۳ دقیقه عرض شمالی و ۵۲ درجه و ۵۰ دقیقه طول شرقی در ارتفاع ۲ متری از سطح دریای آزاد قرار گرفته است. قبل از انجام آزمایش اقدام به نمونه‌برداری از خاک محل اجرای آزمایش از عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری گردید که نتایج خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک در

جدول ۱ ارائه گردیده است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکوشیمیایی خاک در عمق صفر تا ۳۰ سانتی‌متری

Table 1- Physicochemical properties of soil at a depth of 0 to 30 cm

بافت خاک Soil texture	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی EC ($dS.m^{-1}$)	کربن آلی Organic carbon (%)	نیتروژن کل Total N (%)	فسفر قابل جذب P ($mg.kg^{-1}$)	پتاسیم قابل جذب K ($mg.kg^{-1}$)
Silty-Loam	8.0	1.71	2.01	0.20	5	71

تیمارهای آزمایش شامل کاربرد باکتری‌های محرک رشد گیاه در پنج سطح (شاهد بدون باکتری [B_0]، *Pantoea agglomerans* strain O4 [B_1]، *Pseudomonas putida* strain P13 + *Pantoea agglomerans* strain P5 [B_2]، *Pseudomonas koreensis* strain S14 + *Pseudomonas vancouverensis* strain S19 [B_3] و ترکیب سویه‌های مختلف [B_4]) به‌عنوان عامل اصلی و محلول‌پاشی اسیدهای آمینه در چهار سطح (شاهد بدون محلول‌پاشی اسیدهای آمینه [A_0]، محلول‌پاشی متیونین [A_1]، لیزین [A_2] و متیونین + لیزین [A_3]) به‌عنوان عامل فرعی در نظر گرفته شدند. تیمار B_1 حاوی باکتری حل‌کننده نیتروژن، تیمار B_2 حاوی باکتری حل‌کننده فسفر، تیمار B_3 حاوی باکتری حل‌کننده پتاسیم و تیمار B_4 ترکیبی از باکتری‌های حل‌کننده نیتروژن، فسفر و پتاسیم بودند. در پژوهش حاضر، با توجه به ماهیت اختصاصی و جداگانه‌ای که هر یک از باکتری‌ها داشتند از تیمار ترکیبی این باکتری‌ها نیز تحت عنوان تیمار B_4 استفاده شد تا اثرات مثبت احتمالی آن بررسی و با تیمارهای کاربرد انفرادی این باکتری‌ها نیز مقایسه گردد. در این مطالعه از بذر رقم هاشمی جهت کاشت استفاده گردید. رقم هاشمی جزء ارقام محلی، کیفی و از گروه ایندیکا می‌باشد که از نظر عملکردی در گروه ارقام کم‌محصول قرار می‌گیرد ولی کیفیت مطلوب و طعم خوبی دارد و هم‌چنین جزء ارقام زودرس و پابلند محسوب می‌شود که قدرت پنجه‌زنی متوسطی دارد. برخی خصوصیات مهم رشدی برنج رقم هاشمی در جدول ۲ اارئه گردیده است.

جدول ۲- خصوصیات رشدی رقم هاشمی

Table 2- Growth characteristics of Hashemi cultivar

ارتفاع بوته Plant height (cm)	تعداد پنجه Tiller number	وزن هزار دانه 1000-grain weight (g)	عملکرد دانه Grain yield ($kg.ha^{-1}$)	طول دوره رشد Growing season length (day)
140	15	28.1	4300	123

زمین محل اجرای آزمایش بعد از عملیات کامل آماده‌سازی شامل شخم بهاره، روتیواتور، ماله‌کشی و تسطیح به ۶۰ کرت مساوی تقسیم شد که ابعاد هر کرت آزمایش ۳×۳ متر مربع بود. نشاکاری به تعداد سه گیاهچه در کپه و با فواصل ۲۵×۲۵ سانتی‌متر مربع انجام گردید. به‌منظور جلوگیری از انتقال آب و کودها بین کرت‌های مختلف، مرز بین کرت‌ها به عرض و عمق ۳۰ سانتی‌متر با پوشش پلاستیکی عایق‌بندی شد. باکتری‌های محرک رشد گیاه که از شرکت زیست فناور سبز تهیه شده بودند به‌صورت قطره‌پاش مستقیم در مزرعه غرقاب به میزان ۱۰۰ گرم در هکتار توصیه شرکتی به جمعیت ۱۰۸ CFU/gr به شکل محلول در آب، در مرحله آبستنی به اب مزرعه اضافه گردیدند. محلول‌پاشی اسید آمینه لیزین ۷۸ درصدی خالص پودری تولید شده توسط شرکت آجینوموتو و اسید آمینه متیونین ۹۹ درصدی خالص پودری تولیدشده توسط شرکت دگوسا با قابلیت انحلال در آب به میزان ۲/۵ در هزار در مرحله پر شدن دانه انجام شد. محلول‌پاشی با استفاده از دیوایدر و در شرایط آب و هوایی بسیار مناسب و وجود کمترین میزان وزش باد انجام شد. در زمان اعمال تیمارهای آزمایش، آب در کرت‌های آزمایش در جریان نبود. در طول دوره کشت برنج از هیچ‌گونه کود و نهاده شیمیایی استفاده نشد. وجین مزرعه آزمایشی به‌صورت دستی و به کمک نیروی کارگری در طی سه مرحله انجام گرفت. در زمان رسیدگی فیزیولوژیکی، پس از حذف اثرات حاشیه‌ای، نمونه‌های گیاهی به‌صورت تصادفی از هر کرت آزمایش انتخاب شدند. طول خوشه با اندازه‌گیری از ۱۵ خوشه اصلی از ۱۵ بوته در هر کرت و در نهایت بر اساس میانگین آن‌ها تعیین شد. تعداد پنجه بارور در کپه با شمارش از روی ۱۵ کپه در هر کرت و براساس میانگین آن‌ها به‌دست آمد. تعداد دانه پر در خوشه با شمارش از روی ۲۰ خوشه در هر کرت تعیین گردید. وزن هزار دانه با شمارش ۱۰ نمونه صدتایی و توزین آن‌ها به‌دست آمد. عملکرد دانه (شلتوک) پس از حذف اثرات حاشیه، با برداشت مساحت چهار متر مربع از وسط هر کرت آزمایش و براساس رطوبت ۱۴ درصد محاسبه شد. جهت اندازه‌گیری محتوای عناصر غذایی نظیر نیتروژن، فسفر و پتاسیم در

دانه برنج، نمونه‌ها به آزمایشگاه ارسال گردید. سپس، محتوای نیتروژن دانه به روش میکروکجلدال (Fageria, Gheyi, & Carvalho, 2014) با استفاده از دستگاه کجل‌تک، محتوای فسفر دانه به روش رنگ‌سنجی (Jones, Wolf, & Mills, 1991) با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر و محتوای پتاسیم دانه به روش شعله‌سنجی (Waling, Vark, Houba, & Vanderlee, 1989) با استفاده از دستگاه فلیم‌فتومتر تعیین گردید. در نهایت پس از اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها، تجزیه واریانس مرکب داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۲ و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام گرفت. ترسیم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

صفات مورفولوژیکی، اجزای عملکرد و عملکرد

براساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس (جدول ۳)، تعداد دانه پر در خوشه و عملکرد دانه تحت تأثیر اثرات سال در سطح احتمال یک درصد قرار گرفتند. اثرات اصلی تیمار باکتری بر تمام صفات مورد بررسی به جز تعداد پنجه بارور در کپه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اثرات اصلی تیمار اسید آمینه فقط بر صفات وزن هزار دانه ($P \leq 0.05$) و عملکرد دانه ($P \leq 0.01$) معنی‌دار بود. همچنین هیچ‌یک از صفات مورد مطالعه تحت تأثیر متقابل بین کاربرد باکتری و محلول‌پاشی اسید آمینه معنی‌دار نشدند.

نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی کاربرد باکتری نشان داد که طول خوشه واکنش مثبتی به مصرف سویه‌های مختلف باکتری داشت به گونه‌ای که کاربرد تیمارهای B_1، B_2، B_3 و B_4 به‌ترتیب موجب افزایش ۶/۱، ۳/۵، ۴/۴ و ۷/۸ درصدی طول خوشه در مقایسه با تیمار شاهد یا عدم مصرف باکتری گردید. به هر حال، بیشترین مقدار طول خوشه با میانگین ۲۴/۲۲ سانتی‌متر در شرایط کاربرد تلفیقی سویه‌های مختلف باکتری (B_4) حاصل شد که به‌طور معنی‌داری بالاتر از کاربرد جداگانه سویه‌های مورد مطالعه بود. در بین تیمارهای مصرف جداگانه سویه‌های باکتری نیز کاربرد تیمار B_1 (باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن) اثرات بهتری در بهبود طول خوشه برنج در مقایسه با تیمارهای B_2 و B_3 داشت (جدول ۴). در مطالعه حاضر در بین تیمارهای مصرف انفرادی سویه‌های باکتری، تیمار B_1 به دلیل افزایش فراهمی و بهبود جذب نیتروژن توسط گیاه توانست نقش مؤثری در افزایش طول خوشه برنج داشته باشد. گزارش شده که تأمین کافی نیتروژن مورد نیاز گیاه منجر به افزایش طول خوشه برنج گردید، که با نتایج حاصل از پژوهش حاضر مطابقت دارد (Kavoosi & Yazdani, 2020). بررسی‌های به‌عمل‌آمده توسط سایر محققان (Abd El-Mageed, Abd El-Mageed, El-Saadony, Abdelaziz, & Abdou, 2022) حاکی از آن بود که طول اندام هوایی و طول خوشه برنج با کاربرد باکتری‌های محرک رشد به‌ترتیب حدود ۸/۵ و ۹/۶ درصد نسبت به شرایط عدم مصرف باکتری افزایش یافت.

جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب صفات مورفولوژیکی، اجزای عملکرد و عملکرد دانه برنج تحت تیمارهای باکتری و اسید آمینه

Table 3- Combined analysis of variance for morphological traits, yield components and grain yield of rice under treatments of bacteria and amino acids

Source of variation	منابع تغییرات	درجه آزادی d.f	طول خوشه Panicle length	تعداد پنجه بارور در کپه No. fertile tillers hill^{-1}	تعداد دانه پر در خوشه No. filled grains panicle^{-1}	وزن هزار دانه 1000-grain weight	عملکرد دانه Grain yield
Year (Y)	سال	1	0.48^{ns}	0.005^{ns}	67.96^{**}	1.07^{ns}	1201200.3^{**}
Replication×Y	تکرار×سال	4	0.72	0.67	4.53	0.092	22786.8
Bacteria (B)	باکتری	4	12.37^{**}	0.040^{ns}	615.11^{**}	35.12^{**}	1580853.3^{**}
Y×B	سال×باکتری	4	0.018^{ns}	0.078^{ns}	0.50^{ns}	0.082^{ns}	114522.3^{*}
Error	خطا	16	0.44	0.69	9.68	0.63	25638.8
Amino acids (A)	اسید آمینه	3	0.070^{ns}	0.011^{ns}	3.81^{ns}	1.33^{*}	192183.1^{**}
Y×A	سال×اسید آمینه	3	0.003^{ns}	0.014^{ns}	0.056^{ns}	0.103^{ns}	2261.9^{ns}
B×A	باکتری×اسید آمینه	12	0.005^{ns}	0.005^{ns}	0.150^{ns}	0.058^{ns}	15131.0^{ns}
Y× B×A	سال×باکتری×اسید آمینه	12	0.012^{ns}	0.030^{ns}	0.065^{ns}	0.019^{ns}	18793.5^{ns}
Error	خطا	60	0.46	1.08	6.97	0.32	43687.5
CV (%)	ضریب تغییرات	-	2.9	5.5	4.9	2.1	4.4

ns، * و **: به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and **: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ٤- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیکی، اجزای عملکرد و عملکرد دانه برنج تحت تیمارهای باکتری و اسید آمینه

Table 4- Mean comparison of morphological traits, yield components and grain yield of rice under treatments of bacteria and amino acids

تیمارهای آزمایش Experimental treatments	طول خوشه Panicle length (cm)	تعداد پنجه بارور در کپه No. fertile tillers $hill^{-1}$	تعداد دانه پر در خوشه No. filled grains $panicle^{-1}$	وزن هزار دانه 1000-grain weight (g)	عملکرد دانه Grain yield (kg ha^{-1})
سال (Year)					
اول (First)	23.29a	18.98a	53.24b	26.56a	4639.98b
دوم (Second)	23.41a	18.97a	54.75a	26.75a	4840.08a
باکتری (Bacteria)					
B_0	22.32d	18.93a	47.54e	25.13c	4487.04d
B_1	23.76b	18.94a	57.53b	26.70b	4889.88b
B_2	23.10c	18.99a	51.10d	26.50b	4520.96d
B_3	23.35c	18.97a	53.51c	26.42b	4704.79c
B_4	24.22a	19.03a	60.30a	28.52a	5097.50a
اسید آمینه (Amino acids)					
A_0	23.29a	18.96a	53.58a	26.39b	4651.67b
A_1	23.33a	18.95a	53.84a	26.63ab	4719.33b
A_2	23.38a	18.98a	54.16a	26.70a	4744.40ab
A_3	23.40a	19.00a	54.40a	26.90a	4844.73a

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% level of probability according to the LSD test.
B_0: control or without bacteria, B_1: *P. agglomerans* strain O4, B_2: *P. putida* strain P13 + *P. agglomerans* strain P5, B_3: *P. koreensis* strain S14 + *P. vancouverensis* strain S19, B_4: combination of B_1 + B_2 + B_3
A_0: control or without amino acids, A_1: methionine, A_2: lysine, A_3: methionine + lysine

یافته‌های ما نشان داد که اعمال تیمارهای مختلف آزمایشی تغییر معنی‌داری در تعداد پنجه بارور در کپه ایجاد ننمود. در نتایجی مشابه، رحمتی خورشیدی و همکاران (Rahmati Khorshidi, Ardakani, Ramezanpour, Khavazi, & Zargari, 2011) با بررسی پاسخ عملکرد و اجزای عملکرد برنج به باکتری‌های محرک رشد، بیان نمودند که تعداد خوشه در متر مربع تحت تأثیر اثرات تیمارهای کاربرد باکتری آزوسپیریلوم و سودوموناس معنی‌دار نشد.

تعداد دانه پر در خوشه در سال دوم آزمایش (۵۴/۷۵ دانه پر) بالاتر از سال اول آزمایش (۵۳/۲۴ دانه پر) بود. نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی باکتری نشان داد که کاربرد سویه‌های مختلف باکتری به‌صورت انفرادی یا ترکیبی منجر به افزایش تعداد دانه پر در خوشه در مقایسه با تیمار شاهد (B_0) گردید، اگرچه مصرف ترکیبی سویه‌های مورد مطالعه سبب تولید بیشترین تعداد دانه پر در خوشه با میانگین ۶۰/۳۰ دانه پر شد که به‌طور معنی‌داری بالاتر از کاربرد جداگانه سویه‌های مختلف باکتری بود (جدول ۴). مصرف همزمان باکتری‌های مورد مطالعه به‌واسطه تأمین کافی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه نظیر نیتروژن، فسفر و پتاسیم، موجب افزایش تولیدات فتوسنتزی، افزایش انتقال مواد پرورده به دانه و در نهایت بهبود پر شدن دانه گردید. باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق تولید هورمون‌های محرک رشد و همچنین فراهمی عناصر غذایی مورد نیاز گیاه، موجب بهبود دوره پر شدن دانه و در نتیجه افزایش تعداد دانه پر و بهبود وزن دانه می‌گردند (Malakouti & Tehrani, 2005). گزارش شده که تیمار کاربرد باکتری محرک رشد منجر به افزایش ۱۶/۶ درصدی تعداد دانه در خوشه در مقایسه با تیمار شاهد یا عدم کاربرد باکتری گردید (Abd El Mageed *et al*., 2022). نتایج نشان داد که کاربرد باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن (B_1) بیشترین اثر مثبت را در افزایش تعداد دانه پر در خوشه (۱۷/۴ درصد) در بین تیمارهای مصرف انفرادی باکتری‌ها در مقایسه با شاهد داشت و کاربرد سویه حل‌کننده پتاسیم (۱۱/۱ درصد) در رتبه بعدی قرار گرفت. به نظر می‌رسد کاربرد تیمار B_1 به دلیل تثبیت نیتروژن، آزادسازی تدریجی عناصر غذایی و بهره‌گیری گیاه از آن در مراحل مختلف رشد گیاه موجب بهبود معنی‌دار تعداد دانه پر در خوشه در مقایسه با کاربرد انفرادی سایر سویه‌های مورد مطالعه گردید، که با نتایج حاصله توسط سایر پژوهشگران نیز مطابقت دارد (Niknejad, Daneshian, Shirani Rad, Pirdashti, & Arzanesh, 2017). تأمین نیتروژن کافی در مرحله آبستنی سبب افزایش غلظت کلروفیل برگ پرچم، تأخیر در پیری برگ‌ها، افزایش میزان مواد پرورده و همچنین افزایش سرعت فتوسنتز در اندام‌های فتوسنتزکننده می‌شود که در نتیجه افزایش تولید تعداد دانه پر در خوشه را به همراه دارد (Babazadeh, Kavoosi, Esfandiari, Nahvi, & Allahgholipour, 2012).

نتایج نشان داد که اگرچه کاربرد جداگانه سویه‌های باکتری مورد مطالعه منجر به بهبود معنی‌دار وزن هزار دانه در مقایسه با تیمار شاهد یا عدم کاربرد باکتری گردید ولی حداکثر وزن هزار دانه (۲۸/۵۲ گرم) با کاربرد تلفیقی سویه‌های مختلف باکتری (B_4) حاصل شد که به‌ترتیب به میزان ۱۱/۹، ۶/۴، ۷/۱ و ۷/۴ درصد بالاتر از تیمارهای B_0، B_1، B_2 و B_3 بود. بین مصرف انفرادی سویه‌های باکتری اختلاف آماری معنی‌داری از نظر وزن هزار دانه مشاهده نشد و کاربرد باکتری‌های مختلف سبب حصول وزن هزار دانه مشابهی گردید. باکتری‌های محرک رشد گیاه از طریق افزایش فراهمی عناصر غذایی، افزایش فتوسنتز و همچنین تسریع در انتقال فرآورده‌های فتوسنتزی به اندام‌های زایشی (دانه‌ها)، منجر به بهبود وزن هزار دانه برنج می‌شوند (Niknejad *et al.*, 2017). گروه دیگری از پژوهشگران نیز افزایش وزن هزار دانه با استفاده از مصرف باکتری‌ها را در اثر گسترش سطح ریشه در خاک، بهبود جذب عناصر غذایی، بهبود فتوسنتز و افزایش انتقال مواد پرورده به دانه گزارش دادند (Fathi, Farnia, & Maleki, 2013). مطالعات قبلی نشان داد که صفت وزن هزار دانه با استفاده از باکتری محرک رشد حدود ۱۸/۷ درصد در مقایسه با شرایط عدم استفاده از تیمار باکتری افزایش نشان داد (Abd El Mageed *et al.*, 2022)، که در راستای نتایج حاصل از این تحقیق می‌باشد.

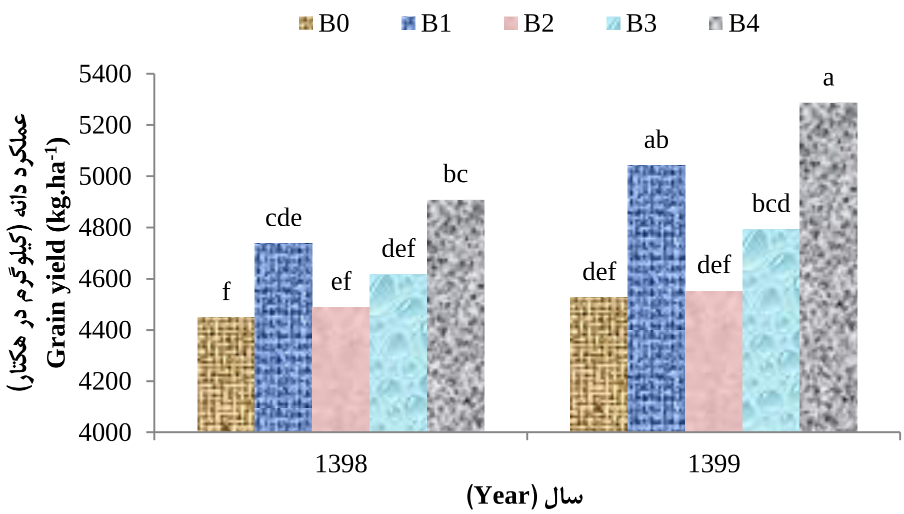
نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات اصلی اسید آمینه نشان داد که حداکثر وزن هزار دانه با محلول‌پاشی ترکیبی اسیدهای آمینه متیونین و لیزین (۲۶/۹۰ گرم) و همچنین کاربرد اسید آمینه لیزین به‌تنهایی (۲۶/۷۰ گرم) حاصل شد، اگرچه با مصرف جداگانه متیونین (۲۶/۶۳ گرم) اختلاف آماری معنی‌داری نداشتند ولی به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار شاهد یا عدم محلول‌پاشی اسیدهای آمینه (۲۶/۳۹ گرم) بودند. اسیدهای آمینه از طریق سنتز تعداد زیادی از ترکیبات آلی نظیر آنزیم‌ها، آلکالوئیدها، ویتامین‌ها و رنگدانه‌ها موجب بهبود رشد گیاه می‌گردند (El-Said & Mahdy, 2016). کاربرد اسیدهای آمینه به فرم محلول‌پاشی روی گیاهان یک روش امیدوارکننده است که موجب بهبود جذب عناصر غذایی به‌خصوص نیتروژن در گیاه و در نهایت افزایش وزن دانه و عملکرد می‌گردد (Khan *et al.*, 2019).

نتایج حاصله نشان داد که عملکرد دانه (شلتوک) تولیدی طی سال دوم آزمایش به میزان ۴/۱۳ درصد بالاتر از سال اول مطالعه بود. نتایج مقایسه میانگین اثرات اصلی باکتری حاکی از آن بود که کاربرد تمام تیمارهای باکتری به‌جز تیمار B_2 منجر به بهبود معنی‌دار عملکرد دانه در مقایسه با تیمار عدم مصرف باکتری گردید به طوری که کاربرد تیمارهای B_1، B_3 و B_4 به‌ترتیب موجب افزایش ۸/۲۳، ۴/۶۲ و ۱۱/۹۷ درصدی عملکرد نسبت به تیمار شاهد شد. به هر حال، حداکثر عملکرد دانه با میانگین ۵۰۹۷/۵۰ کیلوگرم در هکتار در شرایط مصرف ترکیبی سویه‌های باکتری مورد مطالعه (B_4) حاصل شد که به‌ترتیب به میزان ۴/۰۷، ۱۱/۳۱، ۷/۷۰ درصد بیشتر از تیمارهای B_1، B_2 و B_3 بود. در بین تیمارهای کاربرد انفرادی سویه‌های باکتری، مصرف سویه تثبیت‌کننده نیتروژن (B_1) توانست عملکرد دانه بالاتری در مقایسه با سویه‌های حل‌کننده فسفر (B_2) و پتاسیم (B_3) تولید نماید (جدول ۴). با توجه به این‌که جذب نیتروژن در گیاه برنج و متعاقب آن افزایش عملکرد ارتباط مستقیمی با در دسترس بودن نیتروژن در خاک دارد (Huang *et al.*, 2019)، لذا کاربرد تیمار B_1 به‌واسطه فراهمی نیتروژن مورد نیاز گیاه موجب بهبود عملکرد دانه برنج گردید. دلیل عملکرد دانه بالاتر با کاربرد تیمار B_4 (کاربرد همزمان سویه‌های مختلف باکتری) را می‌توان به افزایش اجزای عملکرد به‌خصوص تعداد دانه پر در خوشه، وزن هزار دانه و همچنین بهبود جذب عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم در گیاه نسبت داد. باکتری‌های محرک رشد به‌واسطه تجمع عناصر غذایی در گیاه موجب بهبود تغذیه گیاه می‌گردند (Armada, Roldan, & Azcon, 2014). گزارش شده که تلقیح گیاهان با باکتری‌های محرک رشد منجر به افزایش ۱۵/۹ درصدی عملکرد در مقایسه با تیمار عدم تلقیح شد (Abd El Mageed *et al.*, 2022)، که در راستای نتایج حاصل از مطالعه حاضر می‌باشد. نیک‌نژاد و همکاران (Niknejad *et al.*, 2017) گزارش دادند که کاربرد ترکیبی باکتری‌های آزوسپیریلوم و سودوموناس سبب حصول بیشترین عملکرد دانه برنج رقم کشوری (۷/۴۳ تن در هکتار) گردید، که به‌ترتیب به میزان ۶/۲ و ۵/۹ درصد بالاتر از مصرف جداگانه باکتری‌های آزوسپیریلوم و سودوموناس بود. این محققان، افزایش میزان جذب عناصر غذایی و بهبود اجزای عملکرد ناشی از کاربرد باکتری‌های محرک رشد را دلیل افزایش عملکرد دانه در تیمار ترکیبی باکتری‌های آزوسپیریلوم و سودوموناس عنوان نمودند. بررسی‌های به‌عمل‌آمده توسط اصغری و همکاران (Asghari, Ehteshami, Rajabi Darvishan, & Khavazi, 2014) نشان داد که محلول‌پاشی برنج رقم هاشمی با باکتری‌های *Pseudomonas fluorescens* strain 136 و *Pseudomonas fluorescens* strain 168 سبب تغییر عملکرد دانه از ۲/۰۹ گرم در بوته به ۷/۵۱ و ۷/۹۷ گرم در بوته گردید. افزایش معنی‌دار وزن خشک برنج با کاربرد تلفیقی باکتری‌های افزاینده رشد گیاه در نتایج بخشنده و همکاران (Bakhshandeh *et al.*, 2020) گزارش شده است.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثرات اصلی اسید آمینه نشان داد که حداکثر عملکرد دانه برنج (۴۸۴۴/۷۳ کیلوگرم در هکتار) با محلول‌پاشی ترکیبی اسیدهای آمینه متیونین و لیزین به‌دست آمد اگرچه با کاربرد جداگانه لیزین (۴۷۴۴/۴۰ کیلوگرم در هکتار) اختلاف آماری معنی‌داری نداشت ولی به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمار عدم محلول‌پاشی اسید آمینه و محلول‌پاشی متیونین بود. اگرچه کاربرد

متیونین موجب بهبود جزئی عملکرد در مقایسه با تیمار شاهد گردید ولی اختلاف ایجادشده معنی‌دار نبود (جدول ۴). با توجه به این‌که نیتروژن یکی از اجزای اصلی ساختار اسیدهای آمینه می‌باشد، به نظر می‌رسد در این پژوهش محلول‌پاشی ترکیبی اسیدهای آمینه از طریق افزایش جذب عناصر غذایی به‌خصوص نیتروژن در گیاه موجب بهبود فرآیند فتوسنتز، افزایش سرعت انتقال فرآورده‌های فتوسنتزی به دانه و متعاقب آن بهبود وزن دانه و در نهایت افزایش عملکرد دانه گردیده است. محلول‌پاشی اسیدهای آمینه از طریق تحریک رشد گیاه و بهبود جذب آب و عناصر غذایی موجب افزایش عملکرد تولیدی گیاه می‌گردد (Colla *et al*., 2017).

ارزیابی برهمکنش بین تیمارهای سال و باکتری نشان داد که بیشترین عملکرد دانه طی هر دو سال زراعی در شرایط مصرف همزمان سویه‌های مختلف باکتری مورد مطالعه (B_4) حاصل گردید اگرچه کاربرد تیمار B_1 (باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن) توانست عملکرد مشابهی در هر یک از سال‌های زراعی با تیمار B_4 تولید نماید که حاکی از اهمیت کاربرد این سویه جهت بهبود عملکرد دانه برنج می‌باشد (شکل ۱). در مطالعه حاضر، کاربرد تلفیقی باکتری‌های محرک رشد گیاه به‌واسطه افزایش تثبیت نیتروژن و بهبود حلالیت فسفر و پتاسیم موجب افزایش رشد و عملکرد گیاه برنج گردید. مطالعات قبلی نشان داد که کاربرد تلفیقی میکروارگانیسم‌های محرک رشد گیاه از طریق تبدیل فرم نامحلول فسفر و پتاسیم به فرم محلول و همچنین تولید برخی هورمون‌های گیاهی نظیر ایندول استیک اسید سبب بهبود عملکرد گیاه برنج شد (Bakhshandeh *et al*., 2020).



شکل ۱- مقایسه میانگین برهمکنش بین سال × باکتری بر عملکرد دانه برنج

Figure 1- Mean comparison of interaction between year × bacteria on grain yield of rice

B_0: control or without bacteria, B_1: *P. agglomerans* strain O4, B_2: *P. putida* strain P13 + *P. agglomerans* strain P5, B_3: *P. koreensis* strain S14 + *P. vancouverensis* strain S19, B_4: combination of $B_1 + B_2 + B_3$

میزان عناصر غذایی نیتروژن (ازت)، فسفر و پتاسیم کل دانه

نتایج حاصل از تجزیه مرکب داده‌های آزمایش نشان داد که غلظت نیتروژن و پتاسیم دانه تحت تأثیر اثرات اصلی سال ($P\leq0.01$) معنی‌دار شدند. اثرات اصلی کاربرد باکتری بر غلظت هر سه عنصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. در بین عناصر غذایی، فقط نیتروژن دانه تحت تأثیر اثرات اصلی محلول‌پاشی اسید آمینه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار شد. همچنین اثرات متقابل دو یا سه‌گانه تیمارهای آزمایش بر غلظت عناصر غذایی معنی‌دار نگردید (جدول ۵).

نتایج نشان داد که غلظت نیتروژن دانه در سال دوم (۱/۳۶ درصد) بیشتر از سال اول آزمایش (۱/۲۸ درصد) بود. نتایج مقایسه میانگین اثرات ساده باکتری‌های محرک رشد گیاه نشان داد که کاربرد سطوح مختلف باکتری به‌جز تیمار B_2 موجب بهبود غلظت نیتروژن در دانه برنج گردید، اگرچه بالاترین غلظت نیتروژن دانه (۱/۶۱ درصد) با کاربرد ترکیبی سویه‌های مختلف باکتری (B_4) حاصل شد. کمترین میزان نیتروژن دانه نیز با میانگین ۱/۱۰ درصد تحت تیمار شاهد یا عدم کاربرد باکتری (B_0) مشاهده گردید (جدول ۶). نتیجه حاضر نشان داد که مصرف همزمان سویه‌های مختلف باکتری (B_4) اختلاف معنی‌داری با کاربرد جداگانه هر یک از

سویه‌های باکتری از نظر جذب نیتروژن دانه داشت. همچنین در بین تیمارهای مصرف جداگانه سویه‌ها، کاربرد تیمار B_1 حاوی باکتری حل‌کننده نیتروژن موجب تولید حداکثر محتوای نیتروژن دانه گردید. این نتایج نشان می‌دهد که باکتری تثبیت‌کننده ازت (B_1) پتانسیل بالایی جهت افزایش غلظت نیتروژن در دانه برنج دارد و ترکیب آن با سویه‌های حل‌کننده فسفر و پتاسیم به دلیل اثر سینرژیستی بین این عناصر، منجر به تجمع بیشترین غلظت نیتروژن در دانه می‌گردد. افزایش جذب و بهبود کارآیی مصرف نیتروژن با اضافه شدن پتاسیم به گیاه برنج در نتایج هو و همکاران (Hou *et al.*, 2019) ارائه گردیده است. تلقیح همزمان سویه‌های مختلف باکتری در گیاهان موجب بهبود معنی‌دار جذب عناصر غذایی به‌خصوص نیتروژن می‌گردد (Olivares *et al.*, 2017). عبدل مجید و همکاران (Abd El Mageed *et al.*, 2022) بیان داشتند که تلقیح برنج با باکتری‌های محرک رشد منجر به افزایش تجمع نیتروژن در دانه برنج شد، که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت دارد.

مطابق یافته‌های ما، مصرف همزمان اسیدهای آمینه متیونین و لیزین منجر به تولید بالاترین غلظت نیتروژن در دانه (۱/۴۰ درصد) گردید که به‌طور معنی‌داری بالاتر از تیمارهای مصرف جداگانه هر یک از اسیدهای آمینه و همچنین عدم مصرف اسید آمینه بود. نتایج نشان داد بین کاربرد انفرادی متیونین (۱/۳۰ درصد) و لیزین (۱/۳۱ درصد) نیز اختلاف معنی‌داری از نظر غلظت نیتروژن دانه مشاهده نشد (جدول ۶). اسیدهای آمینه نقش مهمی در بهبود انتقال نیتروژن بین اندام‌های گیاه و در نتیجه افزایش جذب نیتروژن در گیاه دارند (Shekari & Javanmardi, 2017). محلول‌پاشی اسیدهای آمینه از طریق افزایش تثبیت نیتروژن موجب بهبود جذب عناصر غذایی می‌گردد (Weiland, Mancuso, & Baluska, 2016). مطالعات انجام شده توسط سایر محققان حاکی از افزایش معنی‌دار جذب نیتروژن در گیاهانی مانند کاهو (Khan *et al.*, 2019) و سویا (Teixeira *et al.*, 2018) با استفاده همزمان از چند نوع اسید آمینه می‌باشد. گزارش شده که محلول‌پاشی اسید آمینه متیونین سبب افزایش درصد جذب نیتروژن در لوبیا گردید (El-Awadi *et al.*, 2011). بهبود کیفیت دانه برنج با استفاده از اسیدهای آمینه نظیر متیونین و سیستئین در نتایج سایر پژوهشگران گزارش شده است (Nguyen *et al.*, 2012).

بررسی‌های به‌عمل‌آمده نشان داد که در بین سطوح مختلف باکتری، کاربرد تیمارهای B_2 (۶/۹۵ درصد) و B_4 (۷/۰۴ درصد) سبب تولید حداکثر غلظت فسفر دانه برنج گردید و تیمار B_1 (۶/۴۵ درصد) در رتبه بعدی از نظر جذب فسفر دانه قرار گرفت در حالی که کاربرد تیمار B_3 اختلاف معنی‌داری از نظر غلظت فسفر دانه در مقایسه با شاهد یا عدم مصرف باکتری ایجاد ننمود. مقایسه میانگین اثرات اصلی اسید آمینه نشان داد که اگرچه محلول‌پاشی اسیدهای آمینه به‌صورت جداگانه و یا ترکیبی سبب بهبود جزئی غلظت فسفر دانه در مقایسه با تیمار شاهد یا عدم محلول‌پاشی اسیدهای آمینه شد ولی اختلاف ایجاد شده معنی‌دار نبود. (جدول ۶).

جدول ۵- تجزیه واریانس مرکب غلظت عناصر غذایی در دانه برنج تحت تیمارهای باکتری و اسید آمینه

Table 5- Combined analysis of variance for concentration of nutrients in grain of rice under treatments of bacteria and amino acids

Source of variation	منابع تغییرات	درجه آزادی df	غلظت نیتروژن در دانه N concentration in grain	غلظت فسفر در دانه P concentration in grain	غلظت پتاسیم در دانه K concentration in grain
Year (Y)	سال	1	0.225^{**}	0.018^{ns}	0.191^{**}
Replication×Y	تکرار×سال	4	0.033	0.147	0.004
Bacteria (B)	باکتری	4	1.133^{**}	5.443^{**}	0.295^{**}
Y×B	سال×باکتری	4	0.023^{ns}	0.019^{ns}	0.003^{ns}
Error	خطا	16	0.032	0.160	0.019
Amino acids (A)	اسید آمینه	3	0.098^{*}	0.173^{ns}	0.024^{ns}
Y×A	سال×اسید آمینه	3	0.002^{ns}	0.013^{ns}	0.001^{ns}
B×A	باکتری×اسید آمینه	12	0.014^{ns}	0.012^{ns}	0.005^{ns}
Y× B×A	سال×باکتری×اسید آمینه	12	0.002^{ns}	0.005^{ns}	0.000^{ns}
Error	خطا	60	0.024	0.182	0.022
CV (%)	ضریب تغییرات	-	11.9	6. 6	10.5

ns، * و **: به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد

ns, * and **: Not-significant and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

جدول ٦- مقایسه میانگین غلظت عناصر غذایی در دانه برنج تحت تیمارهای باکتری و اسید آمینه

Table 6- Mean comparison of concentration of nutrients in grain of rice under treatments of bacteria and amino acids

تیمارهای آزمایش Experimental treatments	غلظت نیتروژن در دانه N concentration in grain (%)	غلظت فسفر در دانه P concentration in grain (%)	غلظت پتاسیم در دانه K concentration in grain (%)
سال (Year)			
اول (First)	1.28b	6.49a	1.37b
دوم (Second)	1.36a	6.52a	1.45a
باکتری (Bacteria)			
B_0	1.10d	6.01c	1.29c
B_1	1.48b	6.45b	1.41b
B_2	1.15d	6.95a	1.32c
B_3	1.27c	6.08c	1.52a
B_4	1.61a	7.04a	1.53a
اسید آمینه (Amino acids)			
A_0	1.27b	6.42a	1.39a
A_1	1.30b	6.49a	1.40a
A_2	1.31b	6.51a	1.41a
A_3	1.40a	6.60a	1.45a

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشابه در هر ستون براساس آزمون LSD در سطح احتمال پنج درصد فاقد اختلاف معنی‌دار می‌باشند.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different at 5% level of probability according to the LSD test.
B_0: control or without bacteria, B_1: *P. agglomerans* strain O4, B_2: *P. putida* strain P13 + *P. agglomerans* strain P5, B_3: *P. koreensis* strain S14 + *P. vancouverensis* strain S19, B_4: combination of B_1 + B_2 + B_3
A_0: control or without amino acids, A_1: methionine, A_2: lysine, A_3: methionine + lysine

نتایج به‌دست آمده نشان داد که مصرف سویه حل‌کننده فسفر به تنهایی (B_2) یا در ترکیب با سویه‌های مختلف (B_4) سبب تولید حداکثر غلظت فسفر در دانه برنج شد، در حالی‌که مصرف جداگانه سویه حل‌کننده پتاسیم (B_3) نتوانست اثر معنی‌داری در بهبود غلظت فسفر دانه داشته باشد ولی سویه تثبیت‌کننده نیتروژن (B_1) موجب بهبود معنی‌دار محتوای فسفر در دانه در مقایسه با تیمار شاهد (B_0) شد. باکتری‌های تثبیت‌کننده نیتروژن علاوه بر تثبیت نیتروژن، می‌توانند از طریق تولید مواد محرک رشد گیاهی و سنتز اسیدهای آلی موجب فراهمی عناصر غذایی، بهبود رشد ریشه و تارهای کشنده و متعاقب آن بهبود سرعت جذب عناصر غذایی مورد نیاز گیاه گردند (Wu *et al.*, 2005). بهبود میزان غلظت فسفر از طریق کاربرد باکتری‌ها ناشی از تولید بسیاری از ترکیبات مهم سلول‌های گیاهی نظیر اسیدهای نوکلئیک، فسفولیپیدهای غشاء و نوکلئوتیدهایی می‌باشد که در متابولیسم انرژی گیاه مشارکت دارند (Lavakush, Yadav, Verma, Jaiswal, & Kumar, 2014). مطالعات قبلی نشان داد که باکتری سویه *Herbaspirillum sp* با قابلیت انحلال فسفات موجب افزایش ۱۸ درصدی جذب فسفر در برنج در مقایسه با عدم مصرف باکتری گردید (Souza *et al.*, 2013). گروه دیگری از پژوهشگران نیز اظهار داشتند که گیاهان برنج تلقیح‌شده با سویه‌های P. ananatis + P. indica توانستند به میزان ۳۳ درصد بالاتر از گیاهان شاهد فسفر در دانه ذخیره نمایند (Bakhshandeh *et al.*, 2020).

مشاهدات ما نشان داد که غلظت پتاسیم دانه در سال دوم مطالعه با میانگین ۱/۴۵ درصد به‌طور معنی‌داری بالاتر از سال دوم آزمایش با میانگین ۱/۳۷ درصد بود. مقایسه میانگین اثرات اصلی تیمار باکتری نشان داد که کاربرد تیمارهای B_3 (سویه حل‌کننده پتاسیم) و B_4 (ترکیب سویه‌های مختلف) به‌ترتیب با میانگین‌های ۱/۵۲ و ۱/۵۳ درصد سبب جذب بیشترین مقدار پتاسیم در دانه شدند. این نتیجه نشان داد که کاربرد سویه حل‌کننده پتاسیم به‌تنهایی قادر به بهبود معنی‌دار جذب پتاسیم در دانه برنج در مقایسه با تیمار شاهد می‌باشد. اگرچه کاربرد تیمار B_1 نتوانست سبب تولید حداکثر جذب پتاسیم دانه گردد ولی موجب افزایش معنی‌دار تجمع پتاسیم در مقایسه با تیمار عدم کاربرد باکتری (B_0) شد در حالی‌که تیمار B_2 اختلاف معنی‌داری از نظر جذب پتاسیم دانه نسبت به تیمار شاهد نشان نداد (جدول ۶). باکتری‌های حل‌کننده پتاسیم می‌توانند از طریق تبدیل پتاسیم نامحلول به فرم‌های محلول، موجب تسهیل جذب پتاسیم در گیاهان گردند (Mo & Lian, 2011). بخشنده و همکاران (Bakhshandeh *et al.*, 2020) بیان نمودند که مصرف ترکیبی باکتری‌های افزاینده رشد گیاه منجر به افزایش غلظت پتاسیم در دانه به میزان ۱۸ درصد در مقایسه با تیمار عدم مصرف باکتری شد. سایر پژوهشگران نیز افزایش جذب عناصر غذایی در برنج با استفاده از باکتری‌های افزاینده رشد را اعلام نمودند (Garcia de Salamone *et al.*, 2012).

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که با استفاده از باکتری‌های محرک رشد و اسیدهای آمینه می‌توان مشکل عدم دسترسی گیاه به عناصر اصلی خاک را رفع نموده و در نهایت به بهبود رشد و افزایش تولید دست یافت. کاربرد هریک از سویه‌های باکتری به‌صورت انفرادی منجر به بهبود رشد، اجزای عملکرد و عملکرد دانه در مقایسه با تیمار شاهد یا عدم مصرف باکتری گردید ولی حداکثر میزان رشد و عملکرد با کاربرد ترکیبی سویه‌های باکتری (*P. agglomerans* strain O4+ *P. putida* strain P13 + *P. agglomerans* strain P5+ *P. koreensis* strain S14 + *P. vancouverensis* strain S19) به‌دست آمد. استفاده از تیمار ترکیبی سویه‌های باکتری سبب تولید بیشترین غلظت عناصر غذایی نیتروژن، فسفر و پتاسیم در دانه برنج و در نتیجه بهبود ارزش غذایی برنج گردید، اگرچه با تیمار *P. putida* strain P13 + *P. agglomerans* strain P5 از نظر غلظت فسفر و تیمار *P. koreensis* strain S14 + *P. vancouverensis* strain S19 از نظر غلظت پتاسیم دانه اختلاف آماری معنی‌داری نداشت. در بین تیمارهای مصرف انفرادی سویه‌های باکتری، باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن (*P. agglomerans* strain O4) اثرات بهتری بر اجزای عملکرد، عملکرد و غلظت نیتروژن در دانه برنج در مقایسه با باکتری‌های حل‌کننده فسفر (*P. putida* strain P13 + *P. agglomerans* strain P5) و حل‌کننده پتاسیم (*P. koreensis* strain S14 + *P. vancouverensis* strain S19) داشت، در حالی‌که باکتری‌های حل‌کننده فسفر از نظر غلظت فسفر و باکتری‌های حل‌کننده پتاسیم از نظر غلظت پتاسیم بر باکتری تثبیت‌کننده نیتروژن برتری داشت. محلول‌پاشی توأم اسیدهای آمینه متیونین و لیزین توانست موجب بهبود معنی‌دار وزن هزار دانه، عملکرد دانه و محتوای نیتروژن در دانه برنج گردد ولی در میزان غلظت فسفر و پتاسیم در دانه افزایش معنی‌داری مشاهده نشد. به نظر می‌رسد محلول‌پاشی جداگانه اسید آمینه لیزین تا حدودی برتر از کاربرد انفرادی متیونین از نظر صفات وزن هزار دانه و عملکرد دانه بود اگرچه اختلاف ایجادشده معنی‌دار نبود. با توجه به نتایج این پژوهش، کاربرد تلفیقی سویه‌های باکتری مورد مطالعه و محلول‌پاشی توأم اسیدهای آمینه متیونین و لیزین به دلیل بهبود رشد و افزایش معنی‌دار در جذب عناصر غذایی و عملکرد دانه در مقایسه با تیمارهای انفرادی، می‌تواند نقش مهمی در افزایش کمیت و کیفیت دانه برنج داشته باشد. بنابراین با توجه به افزایش قابل‌توجه عملکرد دانه تولیدی با استفاده از محرک‌های رشد گیاه در مقایسه با تیمار شاهد، کاربرد این محرک‌های رشد مقرون به‌صرفه بوده و ضمن کمک به افزایش درآمد کشاورز، موجب کاهش مخاطرات زیست‌محیطی نیز می‌گردد. تحقیقات آینده نیز باید بر ارزیابی مکانیسم‌هایی متمرکز شود که چگونه باکتری‌های محرک رشد و اسیدهای آمینه می‌توانند بر رونویسی ژنتیکی پارامترهای مختلف، از جمله ناقل‌های عناصر غذایی، تولید هورمون و متابولیسم آنتی‌اکسیدانی تأثیر بگذارند. به این ترتیب، می‌توان به درک بهتری از نقش باکتری‌های محرک رشد و اسیدهای آمینه به‌عنوان محرک‌های زیستی در گیاه برنج دست پیدا نمود.

References

1. Abd El-Mageed, T. A., Abd El-Mageed, S. A., El-Saadony, M. T., Abdelaziz, S., & Abdou, N. M. (2022). Plant growth-promoting rhizobacteria improve growth, morph-physiological responses, water productivity, and yield of rice plants under full and deficit drip irrigation. *Rice*, *15*(1), 16. https://doi.org/10.1186/s12284-022-00564-6
2. Ahemad, M., & Kibret, M. (2013). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, *26*, 1-20. https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001
3. Armada, E., Roldan, A., & Azcon, R. (2014). Differential activity of autochthonous bacteria in controlling drought stress in native lavandula and salvia plants species under drought conditions in natural arid soil. *Microbial Ecology*, *67*, 410-420. https://doi.org/10.1007/s00248-013-0326-9
4. Asghari, J., Ehteshami, S. M. R., Rajabi Darvishan, Z., & Khavazi, K. (2014). Study of root inoculation with plant growth promoting bacteria (PGPB) and spraying with their metabolites on chlorophyll content, nutrients uptake and yield in rice (Hashemi cultivar). *Journal of Soil Biology*, *2*(1), 21-31. https://doi.org/10.22092/sbj.2014.100088
5. Babazadeh, S. H., Kavoosi, M., Esfandiari, M., Nahvi, M., & Allahgholipour, M. (2012). Effects of nitrogen rates and application method on yield and yield components of hybrid rice. *Iranian Journal of Field Crops Research*, *9*(4), 728-734. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/gsc.v9i4.13284
6. Bakhshandeh, E., Pirdashti, H., Shahsavarpour Lendeh, K., Gilani, Z., Yaghoubi Khanghahi, M., & Crecchio, C. (2020). Effects of plant growth promoting microorganisms inoculums on mineral nutrition, growth and productivity of rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Plant Nutrition*, *43*(11), 1643-1660. https://doi.org/10.1080/01904167.2020.1739297
7. Colla, G., Cardarelli, M., Bonini, P., & Rouphael, Y. (2017). Foliar applications of protein hydrolysate, plant and seaweed extracts increase yield but dierentially modulate fruit quality of greenhouse tomato. *HortScience, 52*, 1214-1220. https://doi.org/10.21273/HORTSCI12200-17

8. El-Awadi, M., El-Bassiony, A., Fawzy, Z., & El-Nemr, M. (2011). Response of snap bean (*Phaseolus vulgaris* L.) lants to nitrogen fertilizer and foliar application with methionine and tryptophan. *Nature Science, 9*(5), 87-94.
9. El-Said, M. A. A., & Mahdy, A. Y. (2016). Response of two wheat cultivars to foliar application with amino acids under low levels of nitrogen fertilization. *Middle East Journal of Agriculture Research, 5*(4), 462-72.
10. Fageria, N. K., Gheyi, H. R., & Carvalho, C. S. (2014). *Yield, potassium uptake, and use efficiency in upland rice genotypes*. II INOVAGRI International Meeting, 13-16 April, Fortaleza, Brazil. pp 4515-4520.
11. Fathi, A., Farnia, A., & Maleki, A. (2013). Effects of nitrogen and phosphorous biofertilizers on yield and yield components of corn AS71 in Dareh-shahr, Iran. *Journal of Crop Ecophysiology, 7*(1), 105-114. (In Persian with English abstract).
12. Galili, G., & Amir, R. (2013). Fortifying plants with the essential amino acids lysine and methionine to improve nutritional quality. *Plant Biotechnology Journal, 11*, 211-222. https://doi.org/10.1111/pbi.12025
13. Garcia de Salamone, I. E., Funes, J. M., Di Salvo, L. P., Escobar-Ortega, J. S., D'Auria, F., Ferrando, L., & Fernandez-Scavino, A. (2012). Inoculation of paddy rice with Azospirillum brasilense and Pseudomonas fluorescens: Impact of plant genotypes on rhizosphere microbial communities and field crop production. *Applied Soil Ecology, 61*, 196-204. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2011.12.012
14. Hou, W., Trankner, M., Lu, J., Yan, J., Huang, S., Ren, T., Cong, R., & Li, X. (2019). Interactive effects of nitrogen and potassium on photosynthesis and photosynthetic nitrogen allocation of rice leaves. *BMC Plant Biology, 19*(1), 302. https://doi.org/10.1186/s12870-019-1894-8
15. Huang, M., Long, F. A. N., Jiang, L. G., Yang, S. Y., Zou, Y. B., & Uphoff, N. (2019). Continuous applications of biochar to rice: Effects on grain yield and yield attributes. *Journal of Integrative Agriculture, 18*(3), 563-570. https://doi.org/10.1016/S2095-3119(18)61993-8
16. Jones, J. R., Wolf, J. B., & Mills, H. A. (1991). *Plant Analysis Handbook: A Practical Sampling, Preparation, Analysis, and Interpretation Guide*. Micro and Macro Publishing Inc. Athens, Georgia.
17. Kavino, M., Harish, S., Kumar, N., Saravanakumar, D., & Samiyappan, R. (2010). Effect of chitinolytic PGPR on growth, yield and physiological attributes of banana (*Musa* spp.) under field conditions. *Applied Soil Ecology, 45*, 71-77. https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2010.02.003
18. Kavoosi, M., & Yazdani, M. R. (2020). Effect of irrigation interval and nitrogen fertilizer rate on grain yield and yield components of rice (*Oryza sativa* L.) cv. *Hashemi. Iranian Journal of Crop Sciences, 22*(2), 168-182. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.29252/abj.22.2.168
19. Khan, S., Yu, H., Li, Q., Gao, Y., Sallam, B. N., Wang, H., Liu, P., & Jiang, W. (2019). Exogenous application of amino acids improves the growth and yield of lettuce by enhancing photosynthetic assimilation and nutrient availability. *Agronomy, 9*(5), 266. https://doi.org/10.3390/agronomy9050266
20. Kheyri, N. (2017). Effect of the rate and application time of vermicompost on the yield and yield components of rice (*Oryza sativa* L. 'cv. Tarom Hashemi'). *Applied Research in Field Crops, 30*(2), 91-110. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/aj.2018.114711.1169
21. Kochaki, A., Jahan, M., & Nassiri Mahallti, M. (2008). *Effects of arbuscular mycorrhizafungi and free-living nitrogen-fixing bacteria on growth characteristic of corn (Zea mays L.) under organic and conventional cropping systems*. 2nd conference of the international society of organic agriculture research (ISOFAR), June 2008, Modona, Italia.
22. Lavakush, Yadav, J., Verma, J. P., Jaiswal, D. K., & Kumar, A. (2014). Evaluation of PGPR and different concentration of phosphorus level on plant growth, yield and nutrient content of rice (*Oryza sativa*). *Ecological Engineering, 62*, 123-128. https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2013.10.013
23. Malakouti, M. J., & Tehrani, M. M. (2005). *Effects of micronutrient on the yield and quality of agricultural products: Micro-nutrient with macro-effects*. Tarbiat Modares University Press. Tehran, Iran. 445 p. (In Persian with English abstract).
24. Mo, B., & Lian, B. (2011). Interactions between Bacillus mucilaginosus and silicate minerals (weathered adamellite and feldspar): Weathering rate, products, and reaction mechanisms. *Chinese Journal of Geochemistry, 30*, 187. https://doi.org/10.1007/s11631-011-0500-z
25. Nguyen, H. C., Hoefgen, R., & Hesse, H. (2012). Improving the nutritive value of rice seeds: elevation of cysteine and methionine contents in rice plants by ectopic expression of a bacterial serine acetyltransferase. *Journal of Experimental Botany, 63*(16), 5991-6001. https://doi.org/10.1093/jxb/ers253
26. Niknejad, Y., Daneshian, J., Shirani Rad, A. H., Pirdashti, H., & Arzanesh, M. H. (2017). Evaluation the efficiency of growth promoting bacteria on yield and yield components of rice under deficit irrigation and reduced rates of nitrogen. *Applied Field Crops Research, 29*(3), 9-19. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22092/aj.2016.112591
27. Olivares, F. L., Busato, J. G., de Paula, A. M., da Silva Lima, L., Aguiar, N. O., & Canellas, L. P. (2017). Plant growth promoting bacteria and humic substances: crop promotion and mechanisms of action. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture, 4*, 30. https://doi.org/10.1186/s40538-017-0112-x
28. Rahmati Khorshidi, Y., Ardakani, M. R., Ramezanpour, M. R., Khavazi, K., & Zargari, K. (2011). Response of

yield and yield components of rice (*Oryza sativa* L.) to *Pseudomonas flouresence* and *Azospirillum lipoferum* under different nitrogen levels. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences*, *10*(3), 387-395.

29. Rezvan Beidokhti, S., Dashtban, A., Kafi, M., & Sanjani, S. (2009). Evaluating the effect of some *Pesodomonas* bacteria strains on wheat yield and its components at various levels of phosphorus fertilization. *Journal of Agroecology*, *1*(1), 33-40. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/jag.v1i1.2652
30. Rouphael, Y., & Colla, G. (2018). Synergistic biostimulatory action: designing the next generation of plant biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 1655. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01655
31. Sharma, A. K. (2003). *Biofertilizers for sustainable agriculture*. Agro- Bios Publisher, India. PP: 300.
32. Shekari, G., & Javanmardi, J. (2017). Effects of foliar application pure amino acid and amino acid containing fertilizer on broccoli (*Brassica oleracea* L. var. italica) transplant. *Advances in Crop Science and Technology*, *5*, 280. https://doi.org/10.4172/2329-8863.1000280
33. Souza, R., Beneduzi, A., Ambrosini, A., Costa, P. B., Meyer, J., Vargas, L. K., Schoenfeld, R., & Passaglia, L. M. P. (2013). The effect of plant growth-promoting rhizobacteria on the growth of rice (*Oryza sativa* L.) cropped in southern Brazilian fields. *Plant and Soil*, *366*, 585-603. https://doi.org/10.1007/s11104-012-1430-1
34. Teixeira, W. F., Fagan, E. B., Soares, L. H., Soares, J. N., Reichardt, K., & Neto, D. D. (2018). Seed and foliar application of amino acids improve variables of nitrogen metabolism and productivity in soybean crop. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 396. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00396
35. Waling, I., Vark, W. V., Houba, V. J. G., & Vanderlee, J. J. (1989). *Soil and Plant Analysis, A series of syllabi. Part 7. Plant Analysis Procedures*. Wageningen Agriculture University, Netherland. 168p.
36. Weiland, M., Mancuso, S., & Baluska, F. (2016). Signalling via glutamate and GLRs in Arabidopsis thaliana. *Functional Plant Biology*, *43*, 1-25. https://doi.org/10.1071/FP15109
37. Wu, S. C., Cao, Z. H., Li, Z. G., Cheung, K. C., & Wong, M. H. (2005). Effect of biofertilizer containing N fixer, P and K solubilizers and AM fungi on maize growth: a greenhouse trial. *Geoderma*, *125*(1-2), 155-166. https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2004.07.003
38. Xia, L., Lam, S. K., Chen, D., Wang, J., Tang, Q., & Yan, X. (2017). Can knowledge-based N management produce more staple grain with lower greenhouse gas emission and reactive nitrogen pollution? A meta-analysis. *Global Change Biology*, *23*(5), 1917-1925. https://doi.org/10.1111/gcb.13455
39. Yang, Q. Q., Zhang, C. Q., Chan, M. L., Zhao, D. S., Chen, J. Z., Wang, Q., Li, Q. F., Yu, H. X., Gu, M. H., Sun, S. S., & Liu, Q. Q. (2016). Biofortification of rice with the essential amino acid lysine: molecular characterization, nutritional evaluation, and field performance. *Journal of Experimental Botany*, *67*(14), 4285-4296. https://doi.org/10.1093/jxb/erw209
40. Yang, Q. Q., Suen, P. K., Zhang, C. Q., Mak, W. S., Gu, M. H., Liu, Q. Q., & Sun, S. S. M. (2017). Improved growth performance, food efficiency, and lysine availability in growing rats fed with lysine-biofortified rice. *Scientific Reports*, *7*, 1389. https://doi.org/10.1038/s41598-017-01555-0